

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
20. Juni 2002 (20.06.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/48317 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12N 5/06, (74) Gemeinsamer Vertreter: HERDEN, Andreas; Blum-  
5/08, C12M 3/00 bach, Kramer & Partner GbR, Alexandrastrasse 5, 65187  
Wiesbaden (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/14522 (81) Bestimmungsstaaten (national): CA, CN, CZ, EC, HR,  
HU, IL, IN, JP, MX, NO, OM, PH, PL, US, ZM.
- (22) Internationales Anmeldedatum: 11. Dezember 2001 (11.12.2001) (84) Bestimmungsstaaten (regional): eurasisches Patent (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,  
MC, NL, PT, SE, TR).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100 61 704.2 12. Dezember 2000 (12.12.2000) DE
- (71) Anmelder und
- (72) Erfinder: BAUER, Jörg [DE/DE]; Parcussstrasse 3, 64293  
Darmstadt (DE).
- Veröffentlicht:  
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu  
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR PRODUCING BIOLOGICAL TISSUE IN A GROWTH CHAMBER

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR HERSTELLUNG VON BIOLOGISCHEM GEWEBE IN EINER  
WACHSTUMSKAMMER

(57) Abstract: The invention relates to a method and device for producing tissue in a growth chamber for grafting into or onto human or animal bodies. One particular advantage of the invention is that it produces structurally functional bones. According to the invention, biological cells are disposed on a growth frame and arranged together in a growth chamber. Structured and functional growth is obtained by targeted, chronically or locally differing effect of biologically active stimuli. Said stimuli can be mechanical, electrical, magnetical, chemical, olfactive, acoustic and/or optical. According to the invention, the application of stimuli which correspond to those which are normally applied to the natural tissue in the body, is the most suitable.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung von Gewebe in einer Wachstumskammer zur Verpflanzung in oder an einen menschlichen oder tierischen Körper. Besonders vorteilhaft ist die Erfindung zur Züchtung von strukturierten funktionellen Knochen einsetzbar. Es werden biologische Zellen auf ein Wachstumsgerüst aufgebracht und beides in einer Wachstumskammer angeordnet. Die strukturierte und funktionelle Züchtung wird durch die gezielte, insbesondere zeitlich oder örtlich verschiedene oder verschiedenartige Einwirkung von biologisch wirksamen Reizen, z.B. mechanischen, elektrischen, magnetischen, chemischen, olfaktorischen, akustischen und/oder optischen Reize erzielt. Es hat sich gezeigt, dass die Ausübung von Reizen, welche denjenigen entsprechen, welchen entsprechendes natürliches Gewebe im Körper natürlicherweise ausgesetzt ist, am geeignetsten ist.

WO 02/48317 A2

Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung von biologischem Gewebe in einer Wachstumskammer

5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung von biologischem Gewebe in einer Wachstumskammer im allgemeinen und zur Herstellung von biologischem Gewebe zur Verpflanzung in oder an einen menschlichen oder tierischen Körper im speziellen.

10

Beschreibung

Die Entwicklung auf dem Gebiet der Herstellung oder Züchtung von biologischem Gewebe hat in den letzten Jahren einen rasanten Fortschritt genommen und eröffnet vielfältige neue Möglichkeiten in der medizinischen Therapie.

15

Hierbei ist die Herstellung von Knochenersatzwerkstoffen, welche die Heilung von Knochendefekten erlauben, besonders hervorzuheben. Diese allerdings noch sehr junge medizinische Disziplin betrifft insbesondere die Bereiche Chirurgie und Orthopädie.

20

Es sind bereits verschiedene Knochenersatzwerkstoffe, die als Implantate oder Transplantate benutzt werden bekannt. Diese sind in absteigender Wertigkeit:

- 25 i) Humane Eigenknochen, welche von perfekter Bioverträglichkeit sind, aber den Nachteil einer geringen Verfügbarkeit und der Notwendigkeit einer sekundären Operation innehaben.

- ii) Humane Fremdknochen, welche von guter Bioverträglichkeit sind, aber den Nachteil einer hohen Infektionsgefahr und der Gefahr einer Krankheitsübertragung bedingen.
- iii) Tierische Fremdknochen, welche gut verfügbar sind, aber  
5 den Nachteil geringer Bioverträglichkeit aufweisen.
- iv) Tierische Kermikknochen, welche gut verfügbar, von guter Struktur und hoher Bioverträglichkeit, aber nachteiligerweise spröde und nicht resorbierbar sind.
- v) Pflanzliche Keramikknocken, welche gut verfügbar und von  
10 hoher Bioverträglichkeit sind, aber den Nachteil geringer Festigkeit und nur mittlerer Strukturnäherung aufweisen.
- vi) Synthetische Keramikknocken, welche gut verfügbar, fest und von großer Materialvarianz sind, aber den Nachteil  
15 geringer Strukturnäherung und eingeschränkten Einwachsverhaltens haben.
- vii) Synthetische Pasten, welche gut verträglich und verfügbar sind, aber den Nachteil vollständig fehlender Struktur und Festigkeit aufweisen.

20

In der praktischen Anwendung am Menschen haben sich an erster Stelle der humane Eigenknochen (sog. Golden Standard), an zweiter Stelle die tierischen Keramikknocken und an dritter Stelle die synthetischen Pasten etabliert.

25 Nachfolgend sind daher die gravierendsten Schwierigkeiten dieser am häufigsten verwendeten Ersatzstoffe im einzelnen aufgeführt.

Die Implantation humanen Eigenknochens liefert mit Abstand die besten Heilungserfolge. Dabei ist eine sofortige  
30 Anbindung an das Versorgungssystem des umliegenden Knochens mit der spontanen Verfügbarkeit des körpereigenen Immunsystems unter Verwendung des Remodelings der Gewebe positiv zu bewerten.

Im Gegensatz dazu steht die Stelle der Entnahme des humanen Eigenknochens. Hier entstehen oftmals größere Schwierigkeiten als an der eigentlichen Defektstelle. So ist neben den Kosten der zweiten Operationsstelle vor allem ein weiteres Infektionsrisiko, die Belastung durch den Heilungsprozeß und eine im Regelfall minderwertige Knochenstruktur problematisch. Aber auch die Menge an entnehmbarem Material ist eng begrenzt. Häufig müssen sogar mehrere kleine Segmente gewonnen werden, die dann aber keine biomechanischen funktionellen Aufgaben an der Implantationsstelle übernehmen können. Überdies wird ein so gewonnener humaner Eigenknochen - das Transplantat - noch mit anderem Knochenersatzmaterial gestreckt, um ausreichend für die Implantationsstelle zu sein.

Die Transplantatgewinnung erfolgt typischerweise im Operationsbereich während der eigentlichen Operation. Bleibt das Transplantat aber während der Operation längere Zeit in Vorbereitung, so läßt die Bioaktivität progressiv nach, was bis zu einem Absterben des humanen Eigenknochens führen kann. Dies deklassiert das biologisch wertvolle Transplantat zu einem „normalen“ Implantat, das durch eine erhöhte Abbaureaktion des Remodelingsystems den Heilungsverlauf und Erfolg beeinträchtigt.

Bei den Knochenersatzstoffen auf der Basis von tierischem Knochen bieten die Keramiken derzeit eine tolerierbare Alternative. Diese keramischen Implantate werden so hergestellt, dass die inneren Strukturen des Knochens vollständig erhalten bleiben und die Materialzusammensetzung der des humanen Knochens entspricht. Hier können die Vorteile von anorganischem Material kombiniert mit guter Porenstruktur - dem trabekulären Aufbau - ausgenutzt werden. Vorteilhaft ist dabei die primäre Festigkeit, die eine sofortige Lastaufnahme nach der Implantation bewirkt. Demgegenüber

steht der gravierende Nachteil, dass diese keramischen Implantate keinerlei osteogene Potenz besitzen, also nicht als Biomasse vom Organismus akzeptiert werden. Weder die Kopie der Kristallform noch die biomechanischen Eigenschaften entsprechen dem der humanen Gewebeform. Dadurch bedingt ist ein solches Implantat auch lediglich ein tolerierter Platzhalter, der für die eigentliche Knochengenesse nur eine Leitschiene liefert, die nach Abschluss des Heilungsprozesses mit dem neugebildeten Knochen einen Verbund darstellt. Die Nachteile der durch die Sprödigkeit der Keramik hervorgerufenen eingeschränkten Elastizität sind nicht kompensierbar.

Die Herstellung dieser Implantate erfolgt in speziellen Fabriken. Bedingt durch das natürliche Ausgangsmaterial sind allerdings die verfügbaren Implantatgrößen und Formen eingeschränkt. Derzeit besitzt das größte verfügbare keramische Implantat auf der Basis tierischer Spongiosa ein Volumen von etwa 16 cm<sup>3</sup>.

Die pastösen Implantate sind derzeit am meisten im wissenschaftlichen Gespräch. Hier sind besonders die chemisch-physikalischen Eigenschaften der Materialien von Bedeutung. So ist durch die Möglichkeit der Synthese der Stoffe eine sehr gute Adaptation der Kristalle an die der humanen Knochen möglich. Der menschliche Organismus erkennt diese Kristalle als Bausteine für den Knochenaufbau an und integriert sie in das eigene Remodeling des Knochens. So werden die Zeiten des Einwachsens neuer Knochenzellen beschleunigt und reichen schon fast an die des humanen Eigenknochens heran. Nachteilig sind hier die Stoffe zu bewerten, die als Stabilisatoren oder Verfestiger benutzt werden. Diese Stoffe bewirken in der Regel eine erhöhte Zellaktivität für deren Abbau. Auch die durch die pastöse Form des Ersatzstoffes bewirkte Strukturlosigkeit ist negativ

zu bewerten, da diese erst umgebaut werden muss, um ein Knochengerüst in Form von Trabekeln zu generieren. Letztendlich bleibt die Festigkeit solcher Materialien gering, was die Einsetzbarkeit erheblich einschränkt.

5        Neben der vorstehend beschriebenen Verwendung fertiger Ersatzstoffe sind grundsätzlich auch zellbiologische Verfahren zur in vitro Züchtung lebenden Gewebes bekannt. So wird vor allem für Brandverletzungen z.B. lebende Haut gezüchtet. Auch werden in Formen Knorpelzellen vermehrt, die  
10 durch die äußere Wachstumsform die Gestalt von Körperteilen annehmen und als solche vor allem in der rekonstruktiven plastischen Chirurgie eingesetzt werden. Formen wie Ohren oder Nasen haben heute eine implantierbare oder onplantierbare Qualität erreicht.

15        Auch die Züchtung von Knochengewebe ist in der wissenschaftlichen Anwendung einsatzfähig. Die Züchtung von Knochen erfolgt heute in sogenannten cell-growth-chambers. Dabei werden spezielle Knochenzellen von anderen Zellen separiert und für die Wachstumskammern aufbereitet. Die  
20 undifferenzierten Zellen tragen das genetische Potential in sich, sowohl knochenbildende Zellen (Osteoblasten) als auch knochenfressende Zellen (Osteoklasten) zu erzeugen.

Grundsätzlich lässt sich mit solchen Verfahren Knochenmasse generieren. Allerdings weist ein derart  
25 gezüchteter Knochen noch wesentliche Nachteile auf. So ist die Form des gewachsenen Knochens zwar durch eine äußere Formgebung, z.B. durch eine Hohlform bestimmbar, jedoch hat ein derartiger Knochen keine funktionelle mechanische Konstruktion. Der gezüchtete Knochen stellt lediglich eine  
30 Knochenmasse aus Knochensubstanz dar. Dieser Knochen mit seinem schwammartigen Aufbau kann zwar als Knochenersatzwerkstoff verwendet werden, hat jedoch die Neigung durch erhöhtes Remodeling schnell resorbiert zu

werden, da die biomechanischen Eigenschaften lediglich im Zuge des Remodelings gebildet werden können.

Auf der anderen Seite, der vollständig synthetischen, ist ein Verfahren zur Herstellung von strukturierten  
5 keramischen Implantaten bekannt, mit dem es möglich ist, die trabekuläre Struktur eines Knochens zu synthetisieren. Dabei werden die einzelnen Schichten eines Implantates lagenweise aufeinandergelegt und miteinander verbunden. Durch anschließende thermische Behandlung entsteht ein vollständig  
10 anorganisches Implantat auf keramischer Basis.

Alle genannten Materialien und Verfahren stellen unter Berücksichtigung ihrer gravierenden Nachteile aber lediglich mehr oder weniger schlechte Kompromisslösungen für die Gewebezüchtung, insbesondere für den Knochenersatz dar.

15

Es ist daher eine Aufgabe der Erfindung ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung von biologischem Gewebe verfügbar zu machen, welches verbesserte biologische, strukturelle und/oder mechanische Eigenschaften aufweist und  
20 soweit wie möglich wie körpereigenes Gewebe vom Körper akzeptiert wird.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung von biologischem Gewebe verfügbar zu machen, welches verbesserte Eigenschaften  
25 gegenüber dem Stand der Technik aufweist.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung von biologischem Gewebe, insbesondere eines Knochens verfügbar zu machen, welches bzw. welcher eine gute Simulation des humanen oder tierischen  
30 Eigengewebes bzw. -knochens darstellt.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, vorteilhafte Verwendungen für das erfindungsgemäße Verfahren, die erfindungsgemäße Vorrichtung und das hergestellte Gewebe

verfügbar zu machen.

Die Aufgabe der Erfindung wird in überraschend einfacher Weise bereits durch den Gegenstand der Ansprüche 1, 21, 38, und 44, 45, 46 und 47 gelöst.

5 Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung oder Züchtung von biologischem Gewebe in einer Wachstumskammer, insbesondere zur Verpflanzung in oder an einen menschlichen oder tierischen Körper werden biologische Zellen auf ein Wachstumsgerüst aufgebracht. Die biologischen Zellen und das  
10 Wachstumsgerüst werden in der Wachstumskammer angeordnet und es werden biologisch wirksame Reize auf das Wachstumsgerüst und/oder auf die biologischen Zellen ausgeübt. Das Aufbringen erfolgt bevorzugt in oder außerhalb der Wachstumskammer.

Das hergestellte oder gezüchtete Gewebe umfasst  
15 vorzugsweise Knochen, Knorpel, Adern, Ohren, Nasen, Haut oder Organabschnitte bis hin zu ganzen Organen.

Der Erfindung liegt unter anderem die überraschende Erkenntnis zugrunde, dass sich künstliches Gewebewachstum mit einer Vielfalt von Reizen, insbesondere physikalischen  
20 Reizen, beeinflussen, stimulieren und sogar steuern läßt und aktives Gewebe züchtbar ist.

Vorzugsweise werden in einem weiteren Schritt nach einer ersten Wachstumsphase andersartige oder zumindest weitere Zellen auf das Gerüst und/oder das gewachsene Gewebe  
25 aufgebracht, z.B. um in einer zweiten Wachstumsphase einen weiteren von dem zuerst gezüchteten unterschiedlichen Gewebeabschnitt zu erzeugen. Am Beispiel der Herstellung oder Züchtung eines Knochens bedeutet dies, dass vorzugsweise zunächst der stabilitäts- und formgebende Abschnitt des  
30 Knochens gezüchtet wird und danach z.B. eine umgebende Knochenhaut. Es sind auch drei oder mehr solcher Wachstums- oder Züchtungsphasen ggf. mit erneuter Zellaufbringung möglich.



Die zum Beginn des Verfahrens vorzugsweise undifferenzierten Zellen werden durch die Beaufschlagung mit einem Reiz oder einer Mehrzahl von gleichen, verschiedenen oder verschiedenartigen Reizen z.B. in Ihrem Wachstum beeinflusst. Z.B. wird die Zellteilungsrate und/oder die Differenzierung der Zellen während des Wachstumsumsprozesses gesteuert oder geregelt. Letzteres geschieht vorzugsweise global in der Wachstumskammer und/oder lokal, insbesondere zeitlich und/oder örtlich unterschiedlich z.B. an vorbestimmten Stellen des Wachstumsgerüsts und/oder an den Zellen. Durch die Reizbeaufschlagung wird nicht nur die Form des entstehenden Gewebes vorbestimmt gezüchtet, sondern das Gewebe oder Zellkonglomerat erhält überdies noch eine vorbestimmbare Struktur und Funktionalität.

Vorzugsweise sind Form, Struktur und/oder Funktionalität des zu züchtenden Gewebes durch die Art, Dauer und/oder Intensität des Reizes oder der Reize beeinflussbar und/oder vorbestimmbar.

Eine weitere überraschende Erkenntnis ist, dass besonders gute Ergebnisse erzielt werden, wenn der, vorzugsweise physikalische, bevorzugt elektrische oder chemische Reiz einem Reiz entspricht oder zumindest gleichartig ist, welchem Reiz entsprechendes natürliches Gewebe im oder am Körper naturgemäß ausgesetzt ist. So werden beispielsweise Muskeln, Knochen und Knorpel mit elektrischen und/oder mechanischen Reizen oder Kräften, Teile des Gehörapparats mit akustischen und Teile des Sehapparats mit optischen Reizen, z.B. Lichtimpulsen besonderes gut stimuliert.

Vorzugsweise definiert das Wachstumsgerüst hierbei im wesentlichen lediglich zu Beginn des Verfahrens die innere und/oder äußere Form der Gesamtheit der Zellen aus welchen das Gewebe entsteht.

Bevorzugt werden das Wachstumsgerüst, die Zellen und/oder der Reiz derart ausgewählt bzw. eingestellt, dass insbesondere zum Abschluss des Verfahrens im wesentlichen das gewachsene Gewebe und nicht mehr das Wachstumsgerüst die  
5 biomechanischen Eigenschaften bestimmt.

Bei einer bevorzugten Weiterbildung der Erfindung umfasst das Wachstums- oder Traggerüst resorbierbares und/oder nichtresorbierbares Material. Das nichtresorbierbare Material gibt dem gewachsenen Gewebe zusätzliche Festigkeit,  
10 wohingegen das resorbierbare Material während des Verfahrens in der Kammer und/oder nach der Verpflanzung durch die Zellen verdrängt wird. Hierbei verschwindet das Wachstumsgerüst vorzugsweise vollständig. Alternativ wird das Wachstumsgerüst vor dem, während des oder nach dem Abschluss des  
15 Wachstumsvorgangs von dem entstandenen Gewebe getrennt.

Bevorzugt, umfasst das Wachstumsgerüst seinerseits biologisches Material oder Zellen. Alternativ umfasst es ein Vlies, elektrisch leitfähiges Material, z.B. Metall, auf welches die Zellen auf- oder eingebracht werden. Damit werden  
20 elektrische Reize wirksam auf das gesamte Gerüst verteilt.

Besonders vorteilhaft ist es, ein Wachstumsgerüst aus zellwachstumsunterstützenden Material, z.B. Zellulose, Stärke, eine Alkoholverbindung, Gel, und/oder ein gelähnliches Material zu verwenden.

25 Während des Wachstumsprozesses wird vorzugsweise ein wachstumsfördernde Substanz, z.B. bone morphogenetic proteine, Fibrogen und/oder eine genetisch beeinflusste Substanz zugegeben.

Vorzugsweise wird das biologische Gewebe mit einem Depot  
30 einer pharmakologisch wirksamen Substanz versehen, welche während des Verfahrens und/oder nach der Verpflanzung an das gezüchtete Gewebe und/oder den Körper des Patienten abgegeben

wird, wobei das Depot vor dem, während des oder nach dem Abschluss des Wachstumsvorgangs angelegt wird.

Das Verfahren und die Vorrichtung eignet sich insbesondere zur Züchtung oder Herstellung von Knochen, welche eine körperähnliche Struktur und funktionelle mechanische Konstruktion aufweisen. Ein solcher Knochen wird im folgenden auch als „Genetic-Living-Bone“ bezeichnet.

Dieser „Genetic-Living-Bone“, wird als körpereigener Knochen erkannt, akzeptiert und integriert und erfüllt gleichzeitig eine spontane Übernahme biomechanischer Aufgaben. Die Integration des Implantates wird unter Minimierung der zellulären Körperaktivitäten ermöglicht, wobei die Phase des körpereigenen Remodelings spontan einsetzt. Auch wird der Genetic-Living-Bone z.B. zur ex vivo Züchtung von Knochenmark verwendet.

Nachfolgend wird die Erfindung anhand von bevorzugten Ausführungsbeispielen, insbesondere anhand der Züchtung von Knochen und der Synthese strukturierter Werkstoffe beschrieben. Aus diesen Ausführungsbeispielen erschließen sich dem Fachmann zahlreiche weitere Details und Vorteile der Erfindung.

#### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Biologie ist die Gesamtwissenschaft vom Lebendigen, sie umfasst die Anthropologie, die Zoologie, die Botanik und die Protistenkunde. Im Sinne der Erfindung umfasst der Begriff biologisches Gewebe folglich menschliches, tierisches, pflanzliches und protistisches Gewebe und insbesondere lebendes Gewebe. Der Begriff biologische Zellen umfasst ferner menschliche, tierische und pflanzliche Zellen sowie Protisten und insbesondere alle lebenden Zellen.

Für die erfindungsgemäße Herstellung oder Züchtung von biologischem Gewebe, insbesondere eines Genetic-Living-Bone

wird eine Trägerstruktur in einer speziell konstruierten Wachstumskammer eingesetzt und darin oder vor dem Einsetzen, mit Knochenzellen dotiert. In dieser Knochenwachstumskammer oder -zelle werden dann für das Knochenwachstum notwendige Nährmedien über ein Versorgungssystem zur Verfügung gestellt. Bei entsprechender Temperierung erfolgen mittels Übertragung von biologisch wirksamen Reizen oder biomechanischen Impulsen, kontinuierlich oder diskontinuierlich, die für den Aufbau stimulierenden biomechanischen Informationen über die Trägerstruktur. Dabei werden die dotierten Knochenzellen in ihrer Biostimulation angeregt und können so eine Differenzierung durchführen. Dadurch bedingt wird es den Knochenzellen ermöglicht, differenzierten Knochen zu generieren und diesen in biomechanisch funktionellen Strukturen aufzubauen. Ein derartiger Knochen stellt einen funktionell hochwertigen Knochen dar, der spontan alle biomechanischen und zellbiologischen Aufgaben an dem Implantationsort übernehmen kann.

Für das erfindungsgemäße Wachstumsgerüst werden verschiedene Systeme eingesetzt. Bei einer Ausführungsform ist dieses Gerüst ein später im Implantat verbleibendes nichtresorbierbares Hilfsgerüst, das lediglich eine Art Leitschiene für den Genetic-Living-Bone darstellt. Dieses besteht vorzugsweise aus bioverträglichem Metall, Kunststoff, Keramik oder anderen bioverträglichen Stoffen. Zum anderen kann dieses Gerüst aus resorbierbaren Materialien bestehen. Hier kommen auch Kunststoffe, Gläser oder sonstige bioverträgliche Materialien zur Anwendung. Das Gerüst erfüllt vorzugsweise lediglich die Aufgabe, dass der wachsende Genetic-Living-Bone eine Möglichkeit hat, sich an dem Gerüst anlagern zu können, ohne selbst eine Strecke überbrücken zu müssen. Diese Art von Gerüst liefert dann später einen einfachen Knochen mit funktionellem Knochengewebe ohne

besondere biomechanische Eigenschaften. Lediglich die resorbierbare Form des Traggerüstes wird im späteren Knochenremodeling abgebaut, so dass sich nach längeren Einheilungszeiten echt trabekulär konfigurierter Knochen bilden kann.

Anders ist dies bei der Herstellung bereits biomechanischen Gesetzen folgenden Trägergerüsten gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung. Diese Art von Gerüst, die aus den obigen Materialien hergestellt werden kann, liefert bereits in der Genetic-Living-Bone-Wachstumszelle einen biomechanisch wertvollen Knochen. Dabei ist das Gerüst so aufgebaut, dass es bereits die spätere innere Struktur des gewünschten Implantates aufweist. Vorzugsweise ist dies die trabekuläre Struktur von lebendem Knochen, bzw. die corticale Struktur, oder eine Kombination beider Strukturen. Die Integration biomechanisch unterstützender Strukturen ist ebenfalls möglich.

Die Traggerüste können alternativ auch dergestalt konzipiert werden, dass sie während des Aufbaus des Genetic-Living-Bone-Implantates vorhanden sind, jedoch während oder nach dem Aufbau bereits in der Wachstumszelle eliminiert werden, so dass das fertige Implantat lediglich aus Genetic-Living-Bone besteht. Dies hat im Besonderen den Vorteil, dass keine Fremdmaterialien implantiert werden müssen, d.h. es entsteht ein fremdmaterialfreier Knochen. In diesem Falle sind die zu verarbeitenden Materialien für das Traggerüst vorzugsweise zellwachstumsunterstützende Materialien. So werden z.B. Zellulose, Stärke, Alkoholverbindungen, Gele oder gelähnliche Materialien, aber auch abbaubare mineralische oder kristalline anorganische Materialien, wie z.B. Calciumphosphate verwendet. Besteht das Wachstumsgerüst oder Traggerüst aus solch einem während der Wachstumsphase sich eliminierendem Material, ist ein ggf. vorbestimmbarer

Ionenaustausch mit dem entstehenden Gewebe, z.B. Calcium und Sulphat oder Calcium und Phosphat geeignet, die Mineralisation des Genetic-Living-Bone zu unterstützen. Diese Mineralisation vervollständigt synergetisch die Entstehung  
5 eines biomechanisch vollwertigen Ersatzknochens, der alle Eigenschaften eines in vivo entstandenen Knochens aufweist.

Besonders bevorzugt nimmt der wachsende Knochen in der Wachstumskammer dann den Platz auch des Traggerüstes ein, so dass die mechanisch wertvollen Strukturen von belastbarem  
10 Knochen weit mehr ausgeprägt werden können, als wenn das Traggerüst im Implantat verbleibt.

Insbesondere ist das Verhalten der Wachstumszelle während der Aufbauphase des Genetic-Living-Bone für dessen Züchtung wesentlich. Im natürlichen Knochenremodelling kann  
15 ein Knochen nur wachsen, wenn die biomechanische Anforderung an die Defektstelle gesendet wird. Die undifferenzierten Zellen, die für das Knochenremodeling verantwortlich sind, folgen dem Grundsatz, dass nicht benötigter Knochen abgebaut, benötigter Knochen aufgebaut und alter Knochen ersetzt  
20 werden. Diesem Grundsatz folgend differenzieren sich die undifferenzierten Knochen in die knochenbildenden Zellen (Osteoblasten) und die knochenfressenden Zellen (Osteoklasten). Für den Knochenaufbau werden Nährstoffe zugeführt und für den Knochenabbau werden Abbauprodukte  
25 abtransportiert.

Um das Wachstum des Genetic-Living-Bones während der Verweilzeit in der Wachstumszelle zu stimulieren, werden natürliche oder naturähnliche biomechanische Reize simuliert. Diese Reize wird z.B. durch eine mechanische Belastung  
30 hervorgerufen, d.h. auf das Wachstumsgerüst wird durch eine geeignete Einrichtung eine mechanische Zug-, Druck-, Scher- und/oder Torsionsbelastung oder Kombinationen dieser ausgeübt. Das Maß dieser Belastung ist entsprechend den

normalen mechanischen Bewegungen des Knochengerüsts im lebenden Körper angepasst und daher entsprechend klein, so dass beispielsweise folgende Übertragungsmethoden verwendet werden.

5 Bei einer ersten Ausführungsform wird der biomechanische Reiz durch den Anschluß des Wachstumsgerüsts in der Knochenwachstumzelle durch den ein- oder beidseitigen Anschluß piezoelektrischer Impulsgeber hervorgerufen und übertragen. Die Frequenz der Stromimpulse auf das  
10 piezoelektrische Bauteil bestimmen die Frequenz der daraus resultierenden mechanischen Ausdehnung des Piezobauteiles. Die Impulsstärke bestimmt dabei das Maß der Ausdehnung und damit die Stärke der mechanischen Belastung, die auf das Wachstumsgerüst ausgeübt wird. Auch kann die Verlaufsform des  
15 mechanischen Impulses entsprechend gesteuert werden. Durch das Wachstumsgerüst wird so an jede Stelle desselben ein mechanischer Reiz gesendet, der die Knochenzellen zu der bevorzugten Differenzierung der Osteoblasten bewegen soll.

Bei einer weiteren Ausführungsform wird die Fläche der  
20 Wachstumzelle mit Druck beaufschlagt. Dieser Druck ist pulsierend, intermittierend und/oder wellig. Diese Methode der Krafteinleitung ist etwas träger in der Ausgestaltung, aber einfacher zu realisieren. Die Gestaltungsvielfalt der piezoelektrischen Beaufschlagung ist allerdings größer.

25 Darüberhinaus wird durch die Kombination beider vorgenannter Ausführungsformen bei einer Druckbeaufschlagung einer piezoelektrischen Schicht ein Synergieeffekt erzeugt. Der Druck bewirkt die mechanische Belastung, dadurch initiiert, liefern die Piezokristalle einen elektrischen  
30 Impuls, der wiederum mit einer Kontraktion oder Extraktion der Kristalle verbunden ist. Dabei wird der Effekt benutzt, dass elektrische Stromimpulse den biologischen Stoffwechsel positiv beeinflussen können. In diesen Fällen werden die

Piezokristalle bevorzugt in die Matrix der Wachstumsträger integriert, so dass über das ganze Implantat verteilt ein innerer mechanischer Impuls zusätzlich zu den von außen zugeführten mechanischen Impulsen erzeugt wird.

5        Alternativ hierzu besteht das Traggerüst aus elektrisch leitendem Material. Dadurch bedingt wird die Stimulation der Zellen durch elektrische Ströme, Felder oder Spannungen verbessert.

10        In einer weiteren Ausführungsform wird die ganze Wachstumszelle durch Beschleunigung und Verzögerung in Bewegung gehalten. Durch die auftretenden Beschleunigungs- und Bremskräfte entsteht eine globale Krafteinwirkung auf das Wachstumsgerüst, welches ebenfalls einen biologisch wirksamen Reiz oder eine biomechanische Belastung darstellt. Allerdings  
15        werden hierbei nicht nur der Wachstumsträger, sondern auch der Zellen und der Nährmedien beschleunigt. Dies könnte zu einer Störung der Wachstumsrichtungen führen. Jedoch ist die Versorgung durch eine derartige Belastung mit Nährmedien durchaus positiv beeinflussbar. Alternativ oder ergänzend wird  
20        der biologisch wirksame oder biomechanische Reiz durch die Verwendung von Druck- und Unterdrucktransmittern hervorgerufen. Dies ist besonders kostengünstig.

      In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung wird in das Traggerüst eine Einrichtung zur mechanischen  
25        Kraftbeaufschlagung, z.B. ein Zug-, Druck-, Scher- oder/und Torsionsmodul integriert. Dies ist besonders für extrem beanspruchte Teile an den Genetik-Living-Bone vorteilhaft.

      Vorzugsweise wird der sich bildende Gewebeknochen mit einer entsprechenden Nährlösung versorgt. Hierbei wird  
30        bevorzugt die Zusammensetzung verändert, insbesondere gesteuert oder geregelt, wodurch der Knochenmatrix ein selektives Angebot an Elementen unterbreitet wird, das die Knochenzellen zum Knochenaufbau benötigen. Auch ist das



Wachstum der Knochenzellen durch knochenwachstumsfördernde Substanzen wie bone morphogenic proteins, Fibrogene oder ähnlichem positiv beeinflussbar. Besonders hierfür ist der Einsatz genetisch beeinflusster oder mittels der Gentechnik hergestellter Additive möglich. Hierbei können selbstverständlich auch ethische Gesichtspunkte berücksichtigt werden.

Bei der Realisierung ist je nach erwünschter Gewebeart und Form die Intensität und/oder Art der Reize vorbestimmt austariert, damit die bekannterweise einsetzende Zelldegeneration kleiner als die Zellgeneration ist. Parameter für deren Beeinflussung sind dabei z.B. Temperatur, Belastungsfrequenz, Belastungsstärke und Belastungsform.

In der Umsetzungsphase eröffnen sich insbesondere zwei Möglichkeiten:

Zum Einen ist die Generierung von standardisiertem Knochen aus allgemein verträglichen Zellen in einer fabrikmäßigen Herstellung umsetzbar, insbesondere für diejenigen Anwendungen, die ungeplant durchgeführt werden müssen. Auch die patientenbezogene Herstellung in einer Fabrik ist bei verfügbarer Vorlaufzeit erreichbar. Dies erfolgt dann für den allgemeinen Fall in größeren Kammern, für den patientenbezogenen Fall jedoch in Einzelkammern. Entsprechend der Einsatzmenge ist die Preisentwicklung der allgemeinen Knochen niedriger, als die der für den patientenbezogenen Knochen. Die Belieferung der Krankenhäuser kann zentral erfolgen, wobei bei längeren Transportwegen eine entsprechende Kühlung des Gewebes, bzw. eine Nährstoffversorgung während des Transportes integriert werden sollte.

Eine zweite Möglichkeit ist die Herstellung des Genetic-Living-Bone direkt in der Klinik, z.B. in deren Blutbank oder in deren Zelllabor. Durch standardisierte Wachstumskammern mit

entsprechenden Zellvorräten ist die Herstellung gut handhabbar.

Eine weitere Ausführungsform der Genetic-Living-Bone-Implantate umfassen pharmazeutische Wirkstoffe, z.B. in einem Knochen-internen Depot. Die Freigabe von Wirkstoffen hat in der Medizin eine ganz besondere Bedeutung. So erfüllt ein pharmazeutischer Wirkstoff in der Regel die Funktion der Übernahme einer Schutzmaßnahme entweder für das Implantat, oder für das umliegende Gewebe. Eine Infektion, bedingt durch die Rahmenbedingungen der Operationsumgebung sind bei den heutigen Hygieneverhältnissen zwar extrem gesunken, aber dennoch nicht zu vernachlässigen. Ziel einer Wirkstofffreigabe ist z.B. die Prophylaxe gegen Entzündungen, bzw. die Behandlung von Krankheiten wie Krebs oder Tumore, aber auch andere Funktionen sind möglich. Bei diesen Wirkungen ist die Abgabedauer, von kurzfristig bis langfristig, sowie die Abgabemenge vorbestimmbar.

Für die Wirkstoffbeladung des Genetic-Living-Bone sind ebenso verschiedene Varianten möglich.

In einer ersten Variante werden bereits vor der Züchtung der Knochenzellen Wirkstoffsubstanzen in die strukturierte Trägermatrix eingebracht. In dem diese Struktur mit dem Wirkstoff getränkt wird, diesen umfasst oder aus diesem ganz oder teilweise zusammengesetzt ist. In dieser Konstellation gibt die Trägermatrix bereits ihren Wirkstoff während der Zuchtungsphase an die Knochenzellen und die Nährflüssigkeit ab. Dies führt allerdings zu einer hohen Penetrationsrate in das Wachstumsgewebe.

Andererseits werden Wirkstoffe über die Nährflüssigkeit während der Wachstumsphase, bzw. kurz vor oder kurz nach Beendigung der Wachstumsphase besonders bevorzugt zugegeben. Unter Umständen ist die Zuführung der Wirkstoffe auch erst kurz vor der Implantation des Genetic-Living-Bone sinnvoll.

Die Menge, Konzentration und das zeitliche Abgabeverhalten sind dabei den Gegebenheiten anpassbar. Neben einer möglichen Standardbeladung mit Wirkstoffen ist dadurch auch die individuelle Komposition den Patienten-spezifischen

5 Bedürfnissen anpassbar. Das Spektrum der in Frage kommenden Substanzen liegt dabei vorzugsweise im Bereich der Antibiotika und Zytostatika. Aber auch genetisch wirksame Substanzen, wie FGF oder BMP und andere sind allein oder in Kombination mit anderen dem Fachmann bekannten Wirksubstanzen

10 einsetzbar. In besonderen Fällen können diese Wirksubstanzen auch sogenannte Spurenelemente darstellen, um gegebenenfalls im Organismus vorhandene Mängel oder Stoffwechselstörungen zu korrigieren, insbesondere sind dies in den elektrochemischen Vorgängen eingreifende Substanzen, wie Elektrolyte. Aber auch

15 gerinnungshemmende oder gerinnungsfördernde Stoffe, wie die DTP sind bei Störungen im Blutversorgungssystem einsetzbar. Vorteilhaft bei dieser Art der Wirkstoffapplikation ist die Beschränkung des Wirkungsbereiches auf das Implantatwundgebiet.

Konsequenterweise ist es mit vorab beschriebenen

20 Herstellungsmethoden auch möglich, zelldifferenzierten Knochen zu generieren. Hierzu werden bei einer weiteren Ausführungsform durch zeitliche Veränderung der auf das wachsende Implantat wirkenden biomechanischen Reize und/oder durch Veränderung der Zusammensetzung der Nährstofflösung das

25 Knochenzellwachstum manipuliert. Dadurch entsteht eine in Festigkeit und Zusammensetzung veränderte Knochenstruktur, bzw. werden durch eine Beladung der Oberfläche des bereits gewachsenen Knochens teilweise oder vollständig andere Knochensubstanzen aufgelagert. Diese vollständig neue

30 Implantat- oder Werkstoffgeneration wird als Ausführungsform des Genetic-Living-Bone mit besonders großem Anwendungsgebiet erachtet.

Folgt man dem amerikanischen Modell der Bevölkerungserfassung in genetischen Datenbanken, so ist es möglich, mit dieser Erfindung einen weltweit verfügbaren Bestand an patientenspezifischen Ersatzknochen zu schaffen.

5 Im folgenden sind exemplarisch drei Anwendungsbeispiele für die Züchtung spezifischer Knochen und Knochenbestandteile ausgehend von klinischen Anforderungsprofilen dargestellt.

#### Beispiel 1

10 Zur Herstellung eines Implantates in Form des beschriebenen Genetic-Living-Bone wird die Modellform eines Oberschenkelhalsstückes, d.h. einer Verbindung von corticalem und spongiösem Knochengerst benötigt.

Zur Züchtung wird aus einer Masse aus mit Calcium  
15 angereichertem Kollagen nach dem Verfahren der Siebdrucktechnologie ein Strukturgerüst dieses Oberschenkelhalsstückes aufgebaut. Nach dessen Herstellung wird dieses Gerüst in die Wachstumskammer eingebracht und der Kontakt zu der Übertragungseinrichtung des biomechanischen  
20 Reizes hergestellt indem magnetische Druckplatten auf dieses Gerüst aufgelegt werden. In diesem Beispiel wird die Krafteinleitung durch ein magnetisches Feld hergestellt, welches durch seine Schwingungsform idealerweise der Belastung eines natürlichen Knochens angepasst wird. Nachdem  
25 nunmehr das System für den Wachstumsprozeß vorbereitet ist, wird es mit den Wachstumszellen beimpft. Diese Zellen sind zunächst undifferenzierte Zellen aus Knochenmaterial, die während des Verfahrens zu Osteoklasten und Osteoblasten differenzieren. Die Dotierung erfolgt mittels einer  
30 Zelllösung, die durch Tauchung der Trägermatrix in diese Lösung erfolgt. Dabei dringen die undifferenzierten Zellen in die Matrix ein und lagern sich auf der Oberfläche an. Daran anschließend wird das Wachstumsgerüst oder die zu bewachsende

Matrix mit einer Zellmembran verschlossen, so dass die Dotierungszellen nicht abwandern können.

Daran anschließend wird die Wachstumskammer mit einem Nährmedium gespült und im Kreislauf gefördert. Ein Zeitsystem  
5 bewirkt dabei die regelmäßige Nachfüllung mit frischem Nährmedium und ein Absaugen verbrauchter Nährflüssigkeit. Dieser Nährflüssigkeit sind insbesondere ionisierte Calcium- und Phosphationen zugegeben, da diese für die Mineralisation von anorganischen Knochenkristallen benötigt werden. In der  
10 temperierten Wachstumsphase wird auf die magnetischen Druckplatten durch ein extern angelegtes magnetisches Wechselfeld eine dynamische Lastwechselbelastung aufgebracht. Die an- und abschwellige Amplitude ist dabei der biologischen Druckentwicklung eines natürlichen  
15 Bewegungsablaufbelastungsverlaufes angepaßt. Im Zuge der Zellteilung vermehren sich die Donatorenzellen in der belasteten Wachstumskammer und differenzieren sich durch die biomechanische Belastung zu überwiegend Osteoblasten. Dabei wird die kollagene Trägerstruktur durch biochemische Lösung  
20 degradiert und in Form kollagener Strukturen in den wachsenden Knochen integriert. Diese Integration bewirkt seinerseits die Verbindung und Platzierung der anorganischen Knochenkristallsubstanz. Zur Erhöhung der biomechanischen Festigkeit des Genetic-Living-Bone wird die magnetische  
25 Wechsellast in Intervallen, die der Wachstumsgeschwindigkeit entsprechen in seiner Lastamplitude erhöht. Am Schluß des exkorporalen Wachstumsprozesses wird die Nährlösung mit einer pharmakologisch wirksamen Substanz, z.B. einem Antibiotikum versetzt, welches dem Implantat einen antibakteriellen Schutz  
30 verleiht. Die Wachstumsübertragung wird abgestellt und die Druckübertragungsplatten von dem Genetic-Living-Bone entfernt.

Das Implantat wird aus der Wachstumszelle genommen und in einem Transportbehälter unter abgesenkten Temperaturen zwischengelagert. Die Lagertemperaturabsenkung bewirkt dabei eine Reduktion des Zellstebens bis zur Implantation, so dass  
5 ein Genetic-Living-Bone mit maximaler Vitalität implantiert werden kann. In Operationsnähe erfolgt eine mechanische Anpassung des Genetic-Living-Bone an die Defektstelle mit anschließender Implantation. Zur besseren und schnelleren Integration, bzw. Anschluß, kann das Implantat mit frischen  
10 Patientensubstanzen, z.B. Blut, Knochenmark oder ähnlichem inokuliert werden.

Die Wachstumskammer wird gereinigt und sterilisiert und ist so für den nächsten Einsatz vorbereitet.

#### 15 Beispiel 2

Ein gemäß Beispiel 1 hergestellter Genetic-Living-Bone soll zur optimalen Integration bei einer Defektstreckenüberbrückung im Halswirbelbereich ein Wirbelteil ergänzen.

20 Zu diesem Zweck wird der in seiner Außenform gewachsene Genetic-Living-Bone aus der Wachstumskammer entnommen und auf seiner umfänglichen Außenseite mit einem Gel aus Kollagen und Periostzellen (Knochenhaut) beschichtet. Darüber wird eine Schutzmembran aus einer Folie gelegt. Diese Kombination wird  
25 wiederum in eine ggf. weitere Wachstumskammer oder -zelle eingesetzt, von unten oder oben mit Nährlösungen versorgt und in einem muskelähnlichen Vließ eingebettet. Nunmehr wird eine untere und eine obere Torsionsplatte an den Stirnseiten des Genetic-Living-Bone angeschlossen. Die Torsionsplatten werden  
30 durch einen Excenterantrieb in eine leichte Torsionsschwingung zur Simulation der Knochendrehung zum umgebenden muskulären Gewebe versetzt. Durch diese Simulation angeregt, verdichten sich die Periostzellen zu einer

Periostschicht, die idealisiert eine Knochenhaut darstellt. Der Periost-umgebene Genetic-Living-Bone wird aus der Ummantelung entnommen und von der Schutzfolie befreit.

Durch die Periostschicht kann jetzt die ideale  
5 Simulation des neuen Knochensegmentes im Wirbel seine Funktion übernehmen.

### Beispiel 3

Aus einer Mischung von Poly-D,L Lactid und einem  
10 kristallinen Pentacalcium-Hydroxyd-(tris-)Phosphat, welches durch Additive wie Titanoxid zu einem Piezowerkstoff umgeformt ist, wird ein Gerüst hergestellt, welches die äußere Geometrie eines Lendenwirbels aufweist. Dieses Gerüst wird wie in Beispiel 1 und 2 beschrieben in der  
15 Wachstumskammer vorbereitet. Davon abweichend ist jedoch die Einleitung des biomechanischen Reizes.

In diesem Beispiel 3 werden je eine Kontaktplatte oberhalb und unterhalb des Gerüstes angebracht. Nach Dotierung und Nährmediumversorgung wird an die Kontaktplatten  
20 eine Wechselspannung im Frequenzbereich der Resonanzfrequenz der piezoelektrischen Pentacalcium-Hydroxyd-(tris-)Phosphat-Kristalle angelegt. Die Impulsleitung erfolgt durch die Lactidsubstanz und über das Nährmedium. Durch die piezoelektrische Kontraktion und Elongation erfolgt eine  
25 mikromechanische Belastung in allen Gerüstteilen, die die Stimulation der Knochenzellen zu Wachstumsaktivitäten bewirkt. Bei diesem Vorgang wird das Lactid degradiert, so dass nach abgeschlossenem Wachstumsvorgang die lebende Knochensubstanz in Form der ursprünglichen Trägermatrix  
30 besteht. Besonders ist dabei der Verbleib der piezoelektrischen Pentacalcium-Hydroxyd-(tris-)Phosphat-Kristalle im Genetic-Living-Bone, die nach der Implantation umgekehrt einen zusätzlichen Impuls an den Organismus - jetzt

in vivo - liefern. Durch die biomechanische Belastung des Knochens durch Bewegungsabläufe liefern diese Kristalle einen kleinen Stromimpuls der an das umliegende Gewebe abgegeben wird. Dieser Stromimpuls wiederum wirkt sich positiv  
5 unterstützend auf das Knochenwachstum und die Knochenneubildung (ähnlich der sogenannten Reizstromtherapie) aus. Damit ist der Integration des Implantates in den Organismus eine zusätzliche Hilfestellung gewährt.

10        Alternative Ausführungsformen der Erfindung betreffen die Herstellung oder Generation von anderem funktionellen Gewebe bis hin zu Organabschnitten, Organbestandteilen, ganzen Organen, z.B. inneren Organen, Körperteilen und/oder  
15 allgemein funktionellen und/oder strukturierten Zellkonglomeraten, z.B. Knorpel, Adern, Ohren, Nasen, Haut usw. Auch für die Herstellung solch anderer funktioneller Gewebearten ist die Züchtung strukturierten Gewebes ein entscheidender Fortschritt.

      Solche Beispiele sind die Züchtung von knorpeligem  
20 Gewebe, wie Nasenscheidewand, Amboß, Hammer und Steigbügel des Gehörganges oder Bandscheiben der Wirbelsäule.

      Weitere Beispiele funktioneller Bauteile, welche erfindungsgemäß gezüchtet werden können sind Aderwandungen, ganze Aderabschnitte, Ei-, Harn- und Urinleiterwandungen oder  
25 Darmwände.

      Durch eine selektive Gewebeänderung sind solche Bauteile in der Onlaytechnik mit anderen Gewebearten kombinierbar, so dass der funktionelle Anschluß an andere Organbereiche oder Gewebereiche, wie Muskelgruppen oder sogar Nerven möglich  
30 ist.

      In einer besonders bevorzugten Weiterbildung der Erfindung können sogar multifunktionale Bauteilgruppen als Körperersatzteil hergestellt werden. Dabei wird der für



Knochengewebe bevorzugte biomechanische Reiz durch andere biologische Initiatoren ersetzt oder ergänzt.

Bei einer weiteren Ausführungsform werden kombinierte Wirkungen in den Wachstumszellen mit unterschiedlichen Zielsetzungen verwendet. Es wird beispielsweise vitales Knochenmark aus Donatorenzellen gezüchtet. Diese Zellen können aus einer frischen Entnahme stammen, z.B. vom Patienten selbst oder von einem kompatiblen Spender. Andererseits ist die Generation von Knochenmark aus z.B. im Baby- oder Kindesalter gewonnenen und gefroren gelagerten Eigenzellen, ähnlich wie bei Gen- oder Samenbanken möglich.

In diesem kombinierten Verfahren werden dabei den Knochenmarkszellen die simulierte Wachstumslokalisation über einen vorgezüchteten Knochen, unter Umständen in der biomechanischen Konstellation der simulierten Wirbelsäule oder simulierter Markkanalsknochen, zur Verfügung gestellt. Erfindungsgemäß hergestellte Umgebungen ermöglichen dann die Züchtung von Knochenmark in vitro.

Damit ergeben sich neue Gesichtspunkte in der Prophylaxe von Knochenmarkserkrankungen wie Leukämie, Krebs oder Tumoren. Hierbei ist der zeitliche Aspekt der Generation von Bedeutung, da zuerst die Umgebung gezüchtet wird und daran anschließend das Mark. Eines der größten Probleme der bereits bekannten Verfahren ist die begrenzte Verfügbarkeit von Donatorenmark. Daher ist ein besonderer Vorteil der Erfindung, dass derartige Züchtungen in nahezu unbegrenzten Mengen patientenspezifisch durchgeführt werden können.

Eine solche Spenderzüchtung ist auch unter Hinzuziehung der Lagerungskosten der Donatorenzellen - im günstigsten Fall lebenslang - in Bezug auf Beschaffungsaufwand und Materialmenge kostengünstig.

Auch der Verfügbarkeitsaspekt bei plötzlichem Ausbrechen einer derartigen Krankheit wird als positiver Beitrag zur medizinischen Prophylaxe und Behandlungsmöglichkeit gewertet.

Es ist dem Fachmann ersichtlich, dass die Erfindung  
5 nicht auf die vorstehend beschriebenen Ausführungsformen beschränkt ist, sondern vielfältig variiert werden kann, ohne den Geist der Erfindung zu verlassen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von biologischem Gewebe in  
einer Wachstumskammer, insbesondere zur Verpflanzung in  
5 oder an einen menschlichen oder tierischen Körper  
umfassend  
ein Aufbringen von biologischen Zellen auf ein  
Wachstumsgerüst,  
ein Anordnen der biologischen Zellen und des  
10 Wachstumsgerüsts in der Wachstumskammer und  
ein Ausüben eines biologisch wirksamen Reizes auf das  
Wachstumsgerüst und/oder auf die biologischen Zellen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass  
15 der Reiz einem Reiz entspricht oder zumindest gleichartig  
ist, welchem das Gewebe natürlicherweise im oder am  
Körper ausgesetzt ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,  
20 dass strukturiertes und/oder funktionelles biologisches  
Gewebe hergestellt wird.
4. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch  
gekennzeichnet, dass Wachstum, Form, Funktion, Struktur  
25 und/oder Art des biologischen Gewebes durch den Reiz oder  
eine Abfolge von Reizen beeinflusst wird.
5. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch  
gekennzeichnet, dass unterschiedliche und/oder  
30 verschiedenartige Reize ausgeübt werden und  
zelldifferenzierte Gewebeabschnitte hergestellt werden.

- 5 6. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Wachstumsgerüst im wesentlichen nur eine Anfangsform des herzustellenden Gewebes zu Beginn des Verfahrens vorgibt.
7. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Organ, ein Knochen, ein Knorpel, eine Ader, Knochenhaut, oder eine funktionelle Zusammensetzung daraus hergestellt wird.
- 10 8. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass im wesentlichen das gewachsene Gewebe die biomechanischen Eigenschaften der Anordnung aus Gewebe und Wachstumsgerüst bestimmt.
- 15 9. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Gerüst umfassend resorbierbares Material, insbesondere biologisches Material oder Zellen verwendet wird.
- 20 10. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Gerüst, umfassend ein zellwachstumsunterstützendes Material, insbesondere Zellulose, Stärke, Alkoholverbindungen, Gel und/oder
- 25 gelähnliches Material verwendet wird.
11. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das wachsende Gewebe den Platz des Wachstumsgerüsts einnimmt.
- 30 12. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Gerüst umfassend nicht-resorbierbares Material und/oder elektrisch leitfähiges

Material verwendet wird.

13. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Gerüst von dem Gewebe, welches  
5 aus den biologischen Zellen an dem Gerüst gewachsen ist, getrennt wird.
14. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eine pharmakologisch wirksame  
10 Substanz, bevorzugt eine wachstumsfördernde Substanz, besonders bevorzugt ein bone morphogenetic proteine, ein Fibrogen und/oder eine genetisch beeinflusste Substanz zugegeben wird.
15. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Depot einer pharmakologisch wirksamen Substanz an und/oder in dem Wachstumsgerüst und/oder dem Gewebe angelegt wird.
- 20 16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die pharmakologisch wirksame Substanz nach der Verpflanzung des Gewebes in oder an den Körper abgegeben wird.
17. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mechanische, elektrische,  
25 magnetische, chemische, olfaktorische, akustische und/oder optische Reize auf das Wachstumsgerüst und/oder auf das Gewebe ausgeübt werden.
- 30 18. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass zeitlich veränderliche Reize, insbesondere diskontinuierliche Reizimpulse und/oder periodische Reize, auf das Wachstumsgerüst und/oder auf

die biologischen Zellen ausgeübt werden.

19. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass biologisch wirksame Reize mit einem piezoelektrischen Material ausgeübt werden.

20. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eine piezoelektrische Einrichtung an und/oder in dem Wachstumsgerüst angeordnet wird.

10

21. Wachstumsgerüst zur Herstellung von biologischem Gewebe, insbesondere zur Verpflanzung in oder an einen menschlichen oder tierischen Körper und insbesondere zur Anwendung des Verfahrens gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, wobei

15

das Wachstumsgerüst in einer Wachstumskammer anordenbar ist,

biologische Zellen auf das Wachstumsgerüst aufbringbar sind und

20

ein biologisch wirksamer Reiz auf das Wachstumsgerüst und/oder auf die biologischen Zellen ausübbar ist.

22. Wachstumsgerüst nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass biologisches Gewebe mit funktioneller Struktur herstell- oder züchtbar ist.

25

23. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Wachstumsgerüst im wesentlichen nur eine Anfangsform des biologischen Gewebes definiert.

30

24. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass unterschiedliche und/oder

verschiedenartige Reize ausübbar sind.

25. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet, dass Wachstum, Form, Funktion,  
5 Struktur und/oder Art des Gewebes durch den Reiz oder  
eine Abfolge von Reizen beeinflussbar ist.
26. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet, dass das biologische Gewebe ein  
10 Organ, einen Knochen, einen Knorpel, eine Ader,  
Knochenhaut, oder eine funktionelle Zusammensetzung  
daraus umfasst.
27. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
15 dadurch gekennzeichnet, dass im wesentlichen das  
gewachsene Gewebe die biomechanischen Eigenschaften der  
Anordnung aus Gewebe und Wachstumsgerüst bestimmt.
28. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
20 gekennzeichnet durch resorbierbares Material,  
insbesondere biologisches Material oder Zellen.
29. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
gekennzeichnet durch ein zellwachstumsunterstützendes  
25 Material, insbesondere Zellulose, Stärke,  
Alkoholverbindungen, Gel und/oder gelähnliches Material.
30. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet, dass dessen Platz von dem  
30 wachsenden Gewebe einnehmbar ist.
31. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet, dass es nicht-resorbierbares

Material und/oder elektrisch leitfähiges Material umfasst.

- 5 32. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass es von dem Gewebe, welches aus den biologischen Zellen an dem Gerüst gewachsen ist, trennbar ist.
- 10 33. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Depot einer pharmakologisch wirksamen Substanz an und/oder in dem Wachstumsgerüst und/oder dem Gewebe anlegbar ist.
- 15 34. Wachstumsgerüst nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, dass die pharmakologisch wirksame Substanz nach einer Verpflanzung des Gewebes in oder an einen Körper an diesen abgebbar ist.
- 20 35. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der biologisch wirksame Reiz mechanische, elektrische, magnetische, chemische, olfaktorische, akustische und/oder optische Reize umfasst.
- 25 36. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der biologisch wirksame Reiz zeitlich veränderliche Reize, insbesondere diskontinuierliche Reizimpulse und/oder periodische Reize umfasst.
- 30 37. Wachstumsgerüst nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Einrichtung zur Reizerzeugung, insbesondere ein piezoelektrisches Material umfasst.



38. Vorrichtung zur Herstellung von biologischem Gewebe,  
insbesondere zur Verpflanzung in oder an einen  
menschlichen oder tierischen Körper und insbesondere zur  
Anwendung des Verfahrens gemäß einem der vorstehenden  
Verfahrensansprüche, die Vorrichtung umfassend  
eine Wachstumskammer,  
ein in der Wachstumskammer angeordnetes  
Wachstumsgerüst, insbesondere nach einem der Ansprüche 21  
bis 37,  
biologische Zellen, welche an dem Wachstumsgerüst  
angeordnet sind und  
eine Einrichtung zur Erzeugung biologisch wirksamer  
Reize und zur Ausübung der Reize auf das Wachstumsgerüst  
und/oder die biologischen Zellen.

39. Vorrichtung nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet,  
dass die Reize Reizen entsprechen oder gleichartig sind,  
welchen das Gewebe natürlicherweise im oder am Körper  
ausgesetzt ist.

40. Vorrichtung nach Anspruch 38 oder 39, dadurch  
gekennzeichnet, dass eine pharmakologisch wirksame  
Substanz, bevorzugt eine wachstumsfördernde Substanz,  
besonders bevorzugt ein bone morphogenetic proteine, ein  
Fibrogen und/oder eine genetisch beeinflusste Substanz  
zugebbar ist.

41. Vorrichtung nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
gekennzeichnet durch eine Einrichtung zur Erzeugung  
mechanischer, elektrischer, magnetischer, chemischer,  
olfaktorischer, akustischer und/oder optischer Reize.

42. Vorrichtung nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
gekennzeichnet durch eine Einrichtung zur Erzeugung von  
zeitlich veränderlichen Reizen, insbesondere Reizimpulsen  
und/oder periodischen Reizen.
- 5
43. Vorrichtung nach einem der vorstehenden Ansprüche,  
gekennzeichnet durch eine Einrichtung zur Erzeugung von  
biologisch wirksamen Reizen, insbesondere mechanischen  
und/oder elektrischen Reizen, mittels des  
10 piezoelektrischen Effekts.
44. Biologisches Gewebe, insbesondere ein Knochen,  
herstellbar oder hergestellt nach dem Verfahren nach  
einem der Ansprüche 1 bis 20, herstellbar oder  
15 hergestellt mit dem Wachstumsgerüst nach einem der  
Ansprüche 21 bis 37 und/oder herstellbar oder hergestellt  
in einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis 43.
45. Verwendung des Gewebes nach Anspruch 44 zum Im- oder  
20 Onplantieren in oder an einen menschlichen oder  
tierischen Körper.
46. Verwendung des Gewebes nach Anspruch 44, das Gewebe  
ferner umfassend ein Wirkstoffdepot, zum Abgeben einer  
25 pharmakologisch wirksamen Substanz in oder an dem Körper.
47. Verwendung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis  
20, des Wachstumsgerüsts nach einem der Ansprüche 21 bis  
37 oder der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis  
30 43 zur Herstellung oder Züchtung von Knochenmark in einem  
Knochen außerhalb oder innerhalb eines lebenden Körpers.

**METHOD AND DEVICE FOR PRODUCING BIOLOGICAL TISSUE IN A GROWTH CHAMBER****Patent number:** WO0248317**Publication date:** 2002-06-20**Inventor:** BAUER JOERG (DE)**Applicant:** BAUER JOERG (DE)**Classification:**

**- international:** **A61L27/38; C12M3/00; C12N5/06; A61F2/00; A61F2/28; A61F2/30; A61F2/44; A61F2/46; A61L27/00; C12M3/00; C12N5/06; A61F2/00; A61F2/28; A61F2/30; A61F2/44; A61F2/46; (IPC1-7): C12N5/06; C12M3/00; C12N5/08**

**- european:** A61L27/38; C12M3/00; C12N5/06B18

**Application number:** WO2001EP14522 20011211**Priority number(s):** DE20001061704 20001212**Also published as:**

WO0248317 (A3)  
US2004096430 (A)  
DE10061704 (A1)

**Cited documents:**

DE19500498  
DE19808055  
WO9933951  
EP0798374  
WO0034442  
more >>

**Report a data error he****Abstract of WO0248317**

The invention relates to a method and device for producing tissue in a growth chamber for grafting into or onto human or animal bodies. One particular advantage of the invention is that it produces structurally functional bones. According to the invention, biological cells are disposed on a growth frame and arranged together in a growth chamber. Structured and functional growth is obtained by targeted, chronically or locally differing effect of biologically active stimuli. Said stimuli can be mechanical, electric, magnetical, chemical, olfactive, acoustic and/or optical. According to the invention, the application of stimuli which correspond to those which are normally applied to the natural tissue in the body, is the most suitable.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Method and device for producing biological tissue in a growth chamber****Patent number:** US2004096430**Publication date:** 2004-05-20**Inventor:** BAUER JORG (DE)**Applicant:****Classification:**

**- international:** **A61L27/38; C12M3/00; C12N5/06; A61F2/00;**  
A61F2/28; A61F2/30; A61F2/44; A61F2/46; **A61L27/00;**  
**C12M3/00; C12N5/06; A61F2/00; A61F2/28; A61F2/30;**  
A61F2/44; A61F2/46; (IPC1-7): C12N5/08

**- european:** A61L27/38; C12M3/00; C12N5/06B18

**Application number:** US20030450478 20031110

**Priority number(s):** DE20001061704 20001212; WO2001EP14522  
20011211

**Also published as:**

WO0248317 (A3)

WO0248317 (A2)

DE10061704 (A)

**Report a data error he****Abstract of US2004096430**

The invention relates to a method and a device for producing tissue in a growth chamber for transplantation into or onto a human or animal body. The invention can be used particularly advantageously for the cultivation of structured functional bones. Biological cells are applied to a growth framework and both are arranged in a growth chamber. The structured and functional cultivation is achieved by allowing biologically active stimuli, for example mechanical, electrical, magnetic, chemical, olfactory, acoustic and/or optical stimuli, to act in a specified manner, in particular at different times or in different locations or in different ways. It has been found that the action of stimuli which correspond to those to which corresponding natural tissue in the body is naturally exposed is the most suitable.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Docket # KUK-00101

Applic. # \_\_\_\_\_

Applicant: Schultz, et al.

Lerner Greenberg Sterner LLP  
Post Office Box 2480  
Hollywood, FL 33022-2480  
Tel: (954) 925-1100 Fax: (954) 925-1101